

УДК 547.485.6 : 591.481.1 «712.92»

БИОХИМИЯ

В. А. Шагинян, Г. Г. Бунятян, Г. В. Априкян

**Значение АДФ в метаболизме α -кетоглутаровой
 кислоты в митохондриях мозга белых крыс при старении**

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. А. Галояном 9/II 1976)

При проведении исследований по изучению некоторых сторон азотистого обмена в митохондриях мозга белых крыс нами было показано, что превращения глутаминовой кислоты (ГК) путем трансаминирования и окислительного деаминирования протекают с незначительной интенсивностью на протяжении всего постнатального развития, не подвергаясь особым изменениям в старости. АДФ в значительной степени стимулирует эти процессы. Однако в старческом возрасте действие АДФ заметно ослабевает (¹).

Полученные результаты побудили нас изучить в указанном возрасте интенсивность окисления α -кетоглутаровой кислоты (α -КГ) и ее включения в реакцию восстановительного аминирования. Эти вопросы в литературе недостаточно освещены (²).

Исследования проводили на 6-месячных, годовалых и 2-летних (старых) белых крысах. Митохондриальную фракцию (МФ) мозга получали и инкубировали по ранее описанной методике (³). Интенсивность окисления α -КГ определяли манометрическим методом Варбурга, суммарный аммиак (свободный аммиак + амидоазот глутамина) — видоизмененным микрометодом Зелигсона (^{4,5}), а содержание ГК — методом электрофореза на бумаге (^{6,7}). α -КГ брали в конечной концентрации 10 мМ, АДФ — 2 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 5 мМ.

Как видно из табл. 1, эндогенное дыхание МФ мозга с возрастом не подвергается заметным изменениям. АДФ не оказывает существенного действия на эндогенное дыхание в 6-месячном и годовалом возрасте и несколько снижает его интенсивность в старческом. Добавленная α -КГ независимо от наличия или отсутствия в среде экзогенного аммиака выраженно усиливает поглощение кислорода МФ к годовалому возрасту. В старческом же возрасте интенсивность этого процесса значительно снижается. В присутствии добавленного аммиака дыхание МФ мозга годовалых крыс незначительно стимулируется и почти не изменяется у

6-месячных и старых животных. Примечательно, что при добавлении α -КГ и аммиака дыхание претерпевает примерно такие же изменения, как и в присутствии одной α -КГ. Добавление к реакционной смеси, содержащей α -КГ и аммиак, АДФ приводит к четко выраженному усилению окисления α -КГ у животных всех возрастных групп. Однако и в этом случае интенсивность потребления кислорода прогрессивно снижается к 2-летнему возрасту. Аналогичная картина была получена нами и в отношении окисления ГК (¹).

Следует отметить, что в наших других исследованиях (²) АДФ также заметно усиливал поглощение кислорода, когда субстратом дыхания служила α -КГ, но в гораздо менее выраженной степени, нежели при комбинации α -КГ+аммиак+АДФ. И в опытах с α -КГ+АДФ отмечалась аналогичная закономерность—понижение стимулирующего эффекта АДФ в старческом возрасте.

Действие добавленного аммиака на дыхание МФ в присутствии α -КГ и АДФ представляет несомненный интерес, выяснение механизма его действия требует дальнейших исследований.

Таблица 1

Действие АДФ на интенсивность окисления α -КГ в присутствии добавленного аммиака (мкмоль O_2 /г свежей ткани/30 минут) в МФ мозга белых крыс при старении.

Возраст	Контроль	АДФ		α -КГ		NH_3		α -КГ+ NH_3		α -КГ+ NH_3 + +АДФ	
		поглощение O_2	разница с контролем	поглощение O_2	разница с контролем	поглощение O_2	разница с контролем	поглощение O_2	разница с контролем	поглощение O_2	разница с АДФ
6 месяцев	7.92	8.01	+0.09	11.54	+3.62	8.13	+0.21	12.12	+4.2	25.13	+17.12
	\pm 0.28 (10)	\pm 0.34 (10)	\pm 0.01	\pm 0.32 (10)	\pm 0.1	\pm 0.22 (10)	\pm 0.01	\pm 0.25 (10)	\pm 0.09	\pm 0.85 (12)	\pm 0.57
1 год	7.2	7.61	+0.41	12.43	+5.23	8.23	+1.03	12.74	+5.51	22.16	+14.55
	\pm 0.24 (6)	\pm 0.22 (6)	\pm 0.01	\pm 0.3 (6)	\pm 0.13	\pm 0.21 (6)	\pm 0.03	\pm 0.28 (6)	\pm 0.12	\pm 0.72 (8)	\pm 0.47
2 года	8.24	7.19	-1.05	11.83	+3.59	7.99	-0.25	11.73	+3.49	18.58	+11.39
	\pm 0.34 (5)	\pm 0.29 (4)	\pm 0.04	\pm 0.12 (5)	\pm 0.04	\pm 0.14 (6)	\pm 0.01	\pm 0.4 (6)	\pm 0.12	\pm 0.44 (7)	\pm 0.27

Результаты экспериментов по изучению сдвигов в содержании аммиака (табл. 2) показывают, что в процессе инкубации МФ мозга образуется определенное количество аммиака. АДФ сам по себе вызывает повышение уровня аммиака у животных всех возрастных групп. Добавление α -КГ, наоборот, заметно уменьшает образование аммиака, что можно объяснить включением последнего в реакцию восстановительного аминирования. При наличии в среде ингредиентов реакции восстановительного аминирования (α -КГ и аммиака) этот процесс более интен-

Таблица 2

Действие АДФ на интенсивность восстановительного аминирования α -КГ за счет добавленного аммиака (мкмоль азота суммарного аммиака/г свежей ткани/40 минут) в МФ мозга белых крыс при старении

Возраст	До инкубации	П о с л е и н к у б а ц и и											
		Контроль		АДФ		α -КГ		NH_3		α -КГ+ NH_3		α -КГ+ NH_3 +АДФ	
			разница		разница с контролем		разница с контролем		разница с контролем		разница с NH_3		разница с NH_3
6 месяцев	0.91 \pm 0.04 (10)	1.85 \pm 0.06 (22)	+0.94 \pm 0.03	2.83 \pm 0.1 (22)	+0.98 \pm 0.04	1.36 \pm 0.05 (23)	-0.49 \pm 0.02	41.46 \pm 0.76 (23)	-39.61 \pm 0.72	40.53 \pm 0.87 (23)	-0.93 \pm 0.02	38.61 \pm 0.79 (29)	-2.85 \pm 0.04
1 год	1.27 \pm 0.08 (6)	2.42 \pm 0.04 (11)	+1.15 \pm 0.02	3.69 \pm 0.03 (11)	+1.27 \pm 0.01	1.7 \pm 0.03 (12)	-0.72 \pm 0.01	44.13 \pm 0.85 (14)	+41.71 \pm 0.8	43.27 \pm 0.83 (14)	-0.86 \pm 0.02	41.11 \pm 0.62 (15)	-3.02 \pm 0.04
2 года	1.14 \pm 0.04 (4)	1.96 \pm 0.03 (10)	+0.82 \pm 0.01	3.09 \pm 0.04 (8)	+1.13 \pm 0.02	1.36 \pm 0.05 (10)	-0.6 \pm 0.02	42.27 \pm 1.4 (13)	+40.31 \pm 1.34	41.84 \pm 0.92 (12)	-0.43 \pm 0.01	41.04 \pm 0.74 (20)	-1.23 \pm 0.02

Таблица 3

Действие АДФ на синтез ГК (мкмоль/г свежей ткани/40 минут) путем восстановительного аминирования α -КГ за счет добавленного аммиака в МФ мозгах белых крыс при старении.

Возраст	До инкубации	После инкубации											
		контроль		АДФ		α -КГ		NH_3		α -КГ+ NH_3		α -КГ+ NH_3 +АДФ	
			разница		разница с контролем		разница с контролем		разница с контролем		разница с контролем		разница с АДФ
1 год	\pm 2,87 0,41 (4)	\pm 1,11 0,18 (6)	-1,76	\pm 0,81 0,11 (6)	-0,3	\pm 2,26 0,06 (4)	+1,15	\pm 1,01 0,2 (6)	-0,1	\pm 2,69 0,19 (4)	+1,58	\pm 4,31 0,13 (4)	+3,5
2 года	\pm 1,67 0,03 (2)	\pm 1,42 0,08 (4)	-0,25	\pm 0,9 0,05 (4)	-0,52	\pm 1,65 0,14 (4)	-0,23	\pm 1,2 0,05 (4)	-0,22	\pm 2,13 0,07 (4)	+0,71	\pm 3,65 0,17 (4)	-2,75

сивен в 6-месячном возрасте, а в старческом заметно снижается. Как видно из приведенных данных, более значительное снижение уровня аммиака отмечается в пробах с добавлением α -КГ, аммиака и АДФ. Так, например, в МФ мозга 6-месячных крыс уровень аммиака при этой комбинации снижается на 2,85 мкмоль, годовалых—на 3,02 мкмоль, и 2-летних—на 1,23 мкмоль. Полученные результаты позволяют заключить, что АДФ в значительной степени стимулирует процесс восстановительного аминирования α -КГ, и его действие заметно снижается в старческом возрасте.

Для более объективной оценки активности процесса восстановительного аминирования α -КГ, помимо учета изменений в содержании суммарного аммиака, мы определили также количество вновь синтезированной ГК, имея в виду и изменения в содержании аспарагиновой кислоты (АК) у годовалых и 2-летних крыс. Как видно из табл. 3, при инкубации МФ происходит утилизация ГК, которая значительно снижается в старческом возрасте. Как и в ранее проведенных нами исследованиях (9), АДФ усиливает процесс утилизации ГК. При добавлении к МФ мозга годовалых крыс одной α -КГ происходит синтез заметного количества ГК, интенсивность которого выражено снижается к старческому возрасту. В пробах с добавлением α -КГ и аммиака наблюдается та же закономерность, при этом синтез ГК несколько повышается. Заслуживают внимания данные, полученные при сочетанном применении α -КГ, аммиака и АДФ. Образование ГК по сравнению с другими пробами значительно стимулируется, однако и в этом случае эффект АДФ заметно уменьшается в старческом возрасте.

Некоторое количество ГК образуется в результате переаминирования АК с α -КГ, однако удельный вес этого пути в синтезе ГК незначителен (данные в таблицах не приведены).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что АДФ в значительной мере стимулирует дыхание МФ при наличии в среде α -КГ как дыхательного субстрата и аммиака. В этих условиях особенно разительна убыль добавленного аммиака и образование при этом ГК. Примечательно, что хотя в мозгу старых животных происходит заметное снижение интенсивности восстановительного аминирования α -КГ, тем не менее активность этого процесса в старческом возрасте подвергается регуляции со стороны АДФ, правда, в меньшей степени.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

ԱԴՖ-ի նշանակությունը α -լեւոտոլուտարաթթվի փոխանակության մեջ սպիտակ առնետների ուղեղի միտոխոնդրիաներում ծերացման ժամանակ

ԱԴՖ-ն զգալիորեն խթանում է α -լեւոտոլուտարաթթվի (α -ԿԳ) օքսիդացումը և նրա ամինացումը վեց ամսական, մեկ տարեկան և երկու տարեկան (ծեր) սպիտակ առնետների ուղեղի միտոխոնդրիալ ֆրակցիայում: α -ԿԳ-ի օքսիդացումը և նրա ամինացումը, այլ կերպ դիտարկելիս, ամինափոխանակության անալոգում, ավելացված ամոնիակի և ԱԴՖ-ի ներկայությամբ աստիճանաբար նվազում են մինչև ծիրացումը:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ Գ. Վ. Ափրիկյան և Վ. Ա. Շահինյան, Вопросы биохимии мозга, изд. АН Арм. ССР, 8, 91 (1973). ² E. Weinbach, J. Garbus, J. Biol. Chem., 234, 412 (1959). ³ Գ. Վ. Ափրիկյան և Վ. Ա. Շահինյան, Вопросы биохимии мозга, изд. АН Арм. ССР, 5, 17, (1969). ⁴ D. Sellgson, H. Sellgson, J. Lab. Clin. Med., 38, 324, (1951). ⁵ А. И. Сулакова, Г. П. Труш и А. Явилякова, Вопросы медицинской химии, 5, 538, (1962). ⁶ W. Grassmann, E. Hanning and M. Flöckl, Zeit. Physiol. Chem., 299, 258, (1955). ⁷ Գ. Խ. Бунятян և Գ. Վ. Ափրիկյան, Вопросы биохимии, изд. АН Арм. ССР, 2, 5, (1961). ⁸ Գ. Գ. Бунятян, ДАН Арм. ССР, т. 62, № 4, (1976). ⁹ Գ. Վ. Ափրիկյան, Գ. Խ. Бунятян և Վ. Ա. Շահինյան, Вопросы биохимии мозга, 6, 67 (1970).